Aus dem Anatomischen Institut der Universität zu Breslau.
Direktor: Prof. Dr. Blotevogel.

Zur Histochemie der Alveolarphagocyten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Medizinischen Doktorgrades
bei der Medizinischen Fakultät
der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Karl Heinrich Matzner
Medizinal Praktikant

Breslau 1939

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Breslau

---

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Blotevogel
Dekan: Prof. Dr. Gutzeit

Sonderabdruck aus Anat. Anz. Bd. 87 Nr. 1/3

Nachdruck verboten.

(Aus dem Anatomischen Institut der Universität Breslau
[Direktor: Prof. Dr. W. Blotevogel].)

Zur Histochemie der Alveolarphagocyten.

Von K. H. Matzner.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Die Genese der sog. Alveolarphagocyten ist ein stark umstrittenes Problem. Man ist sich zwar einig, daß sie von jenen großen polygonalen Zellen abstammen, die sich in das Alveolenlumen vorbuchten, aber Uneinigkeit besteht darüber, ob diese Mutterzellen der Alveolarphagocyten mesenchymale oder epitheliale Elemente darstellen. Dieses Geneseproblem, ob mesenchymal oder epithelial, soll hier nicht entschieden werden. Viel wesentlicher erscheint es, in den Arbeitschemismus dieser in mehrfacher Hinsicht funktionell eine große Bedeutung besitzenden Zellen einen Einblick zu gewinnen.

Eine Reihe von Substanzen, die auf die besondere biologische Aktivität dieser Zellgruppe hinweisen, ist in ihnen bereits nachgewiesen worden. Eine besondere Bedeutung für die Beurteilung der Zellaktivität kommt dem Nachweis oxydoreduktiver Systeme zu. Da sich in den Alveolarwandzellen vermutlich ein solches Element, nämlich Glutathion, vorfindet, schien es angebracht, nach einem zweiten Vertreter dieser Gruppe, nämlich der leicht nachweisbaren Ascorbinsäure, zu fahnden, zumal das Verhalten der Ascorbinsäure im histologischen Bilde Rückschlüsse wichtiger Art auf die Zelleistung gestattet.

Andere Untersuchungen hatten ergeben, daß die Ascorbinsäure eine wichtige Rolle bei Phagocytose und intrazellulärer Verdauung spielt, und es war zu erwarten, daß in den Alveolarphagocyten diese Substanz dann vorhanden ist, wenn sie in Aktion begriffen sind. Ihre Phagocytosefähigkeit ist durch die intratracheale Einführung von Tuberkelbazillen und Staphylococcenaufschwemmungen lange bekannt. Diese Versuche zeigten klar die große Bedeutung, die den Alveolarphagocyten für die Infektabwehr in der Lunge zukommt. Da eine unzureichende Vitamin-C-Versorgung des Organismus gerade zu einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Erkrankungen des Respirationstraktes führt, käme dem etwaigen Nachweis von Vitamin C im Arbeitschemismus dieser Zellen große Bedeutung zu.

Die Vitamin-C-Darstellung erfolgte nach der Methode von Giroud und Leblond. Da das durch Vitamin C zu metallischem Silber reduzierte Silbersalz in Form schwarzer Granula in den Zellen lagert, sind für die Untersuchungen infolge Verwechselungsgefahr rußzellenhaltige Lungen erwachsener Tiere ungeeignet. Zwar ergeben sich bei Verwendung stärkerer Lichtquellen beträchtliche Unterschiede zwischen der Mehrzahl der Staubgranula und echter Vitamin-C-Granula, doch fehlt der Reaktion an normalen Lungen erwachsener Tiere die beweisende Sicherheit. Verwendet man dagegen junge Tiere, so ergibt die Untersuchung von alkoholfixierten Lungen, daß in bestimmten Altersstadien nur äußerst spärliche Staubzellen mit gelblich-bräunlichem Inhalt vorhanden sind. Bei Untersuchung etwa zehntägiger Mäuse ließen sich überhaupt noch keine Staubzellen nachweisen, so daß an diesem Material jegliche Verwechselungsmöglichkeit ausscheidet. Aus diesen Gründen beziehen sich die Untersuchungen auf etwa acht Tage alte Meerschweinchen und 8—12 Tage alte weiße Mäuse. Von jedem Tier wurde die halbe Lunge der Vitamin-C-Reaktion unterzogen, während die andere Hälfte zur Kontrolle in 80% Alkohol fixiert wurde, da sich auch bei der Vitamin-C-Reaktion der Hauptfixierungsvorgang erst im Alkohol vollzieht. Jeder Lungenlappen wurde im Bereich des Hilus breit eröffnet, um ein besseres Eindringen der Reagentien zu gewährleisten, und vollständig in Serie geschnitten. Nachfärbung mit Kernechtrot und Lichtgrün.

Die Durchmusterung ergab zu diesem Zeitpunkt bei den alkoholfixierten Präparaten ein noch völliges Fehlen von staubbeladenen Alveolarwandzellen. Dagegen zeigten sich in den der Vitamin-C-Reaktion unterzogenen Lungenpartien zahlreiche mit schwarzen Körnchen beladene Zellen und zwar in einer Menge, daß bei Seriendurchmusterung fast in jeder Alveole 1—2 Zellen zu finden sind. Hier sei gleich vorweggenommen, daß durchaus nicht eine generelle Vitamin-C-Beladung der Alveolarwandzellen festzustellen war, sondern daß im wesentlichen nur jene Zellen beladen sind, die seit langem als sog. „Reizformen" beschrieben wurden oder die schlechthin die Alveolarphagocyten darstellen.

Gelegentlich findet man in die Wand der Alveolensepten eingeschmiegt langgestreckte Zellen, die mit wenigen Granula beladen sind. Intensivere Beladung zeigen nur jene Zellen, die sich im Beginne der Ablösung von der Alveolarwand befinden. Abb. 1 zeigt

in einer Kapillarnische eine solche Alveolardeckzelle, die mit mehreren Granula erfüllt ist. Diese Granula sind diffus im Plasma verteilt und lagern häufig in den von zahlreichen Autoren beschriebenen langen plasmatischen Ausläufern dieser Zellen. Bei Bedienung der Mikrometerschraube werden auch im Plasmaausläufer der in Abb. 1 wiedergegebenen Zelle noch 2—3 Granula ersichtlich, die sich aber auf der photographischen Wiedergabe nicht darstellen ließen. Auf diese Weise werden durch die Vitamin-C-Granula die oft sehr dünnen Plasmaausläufer in ihrer Zugehörigkeit zu den Alveolardeckzellen deutlich gekennzeichnet. An geeigneten Stellen, an denen mehrere solcher Vitamin-C-beladener Alveolardeckzellen liegen, wird ersichtlich, daß in dünnen Zwischenräumen das Kapillarnetz nackt zutage liegt. Falls „kernlose Platten" als selbständige Gebilde bestehen würden, müßten sie an solchen Stellen, wo die Zugehörigkeit der Plasmaabschnitte zu den Alveolardeckzellen durch die Vitamin-C-Beladung deutlich markiert ist, sichtbar sein.

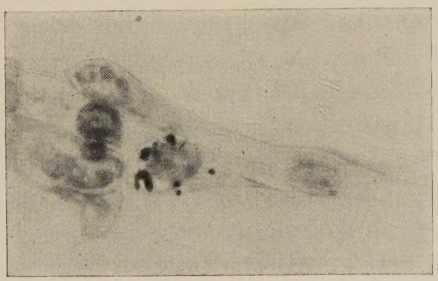


Abb. 1. Vitamin-C-beladene Alveolarwandzelle im Beginne der Ablösung. [Septum- und Zellkonturen teilweise überzeichnet. Sämtliche Aufnahmen (1—3c) stammen vom gleichen Tier, einem 8 Tage alten Meerschweinchen und sind mit der gleichen Vergrößerung aufgenommen (Immersion Winkel 1,3, Okular 8). Die Schnittdicke der Präparate beträgt 8 μ.]

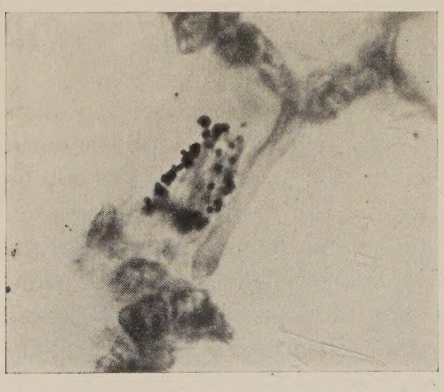
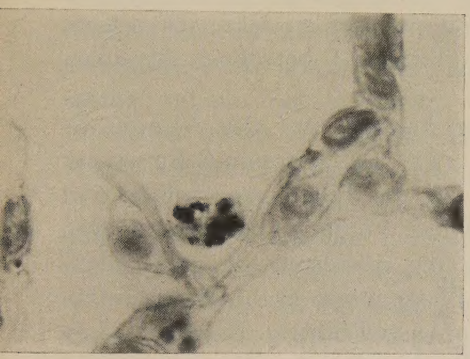


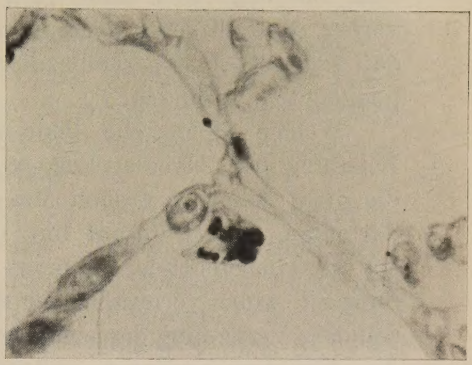
Abb. 2. Vitamin-C-beladener Histiocyt (?) im Alveolarseptum lagernd.

Die Abb. 2 zeigt eine Septumwandung von der Flächenansicht getroffen. In ihr lagert eine große, stark mit Vitamin C beladene Zelle. Der länglichen Kernform nach handelt es sich hier vielleicht um einen im Septumbindegewebe liegenden echten Histiocyten. Vergleicht man damit die anderen Abbildungen, die sämtlich Vitamin-C-beladene Alveolarphagocyten darstellen, so erkennt man, daß sich

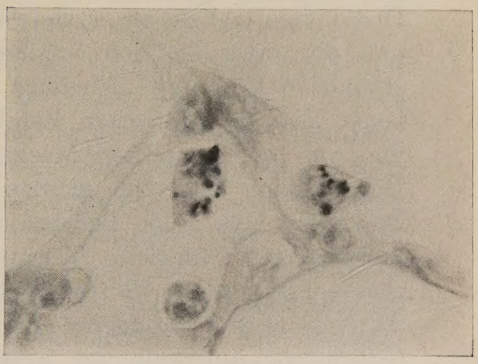
keinerlei Unterschied zwischen den beiden Zellformen hinsichtlich der Vitamin-C-Beladung ergibt. Wie die Abb. 3a—c zeigt, lassen sich die sog. Alveolarphagocyten lediglich durch ihre charakteristische Lagerung, die meist in den Septumnischen erfolgt, erkennen. Schon hier sei betont, daß die Alveolarphagocyten in ihrem Arbeitschemismus vollständig den echten Histiocyten gleichen.



a



b



c

Abb. 3a—c. Abgelöste Alveolarphagocyten in Septumnischen liegend. Seßhafte Alveolarwandzellen frei von Vitamin C (siehe besonders Abb. 3c).

Abb. 3c zeigt zwei bereits abgelöste, stark mit Vitamin-C-beladene Alveolarphagocyten, während seßhafte Alveolarwandzellen vollständig unbeladen sind. In diesen abgelösten Formen scheint sich die Hauptarbeitsleistung dieser Zellen zu vollziehen, sie verdienen mit Recht den Namen „Reizformen". Wir können uns nicht der Meinung von Clara anschließen, der glaubt, daß in diesen Reizformen der Arbeitsprozeß als solcher abgeschlossen ist, daß die Loslösung von der Alveolarwand also erst nach getaner Arbeit erfolgt. Die Dichte der Vitamin-C-Beladung stellt, wie andere Untersuchungen gezeigt haben, einen Indikator für die jeweilige Zelleistung dar. Demnach scheinen sich also die wichtigsten Stoffwechselumsetzungen gerade erst in den abgelösten Formen zu vollziehen. Ganz

besonders deutlich wird dies bei der experimentellen Pneumococceninfektion beim Meerschweinchen, wo in den Anfangsstadien das Exsudat zum größten Teil aus solchen dicht mit Vitamin-C-beladenen Alveolarphagocyten besteht. Vermutlich beladen sie sich hier unter dem Einfluß der Phagocytose von Pneumococcen. Sie erfüllen diese Aufgabe der Bakterienphagocytose aber nicht nur vom Luftwege aus, denn auch bei der hämatogenen Reinfektion vorher sensibilisierter Tiere mit Tuberkelbazillen läßt sich zeigen, daß sich später Tuberkelbazillen in Vitamin-C-beladenen Alveolarphagocyten vorfinden.

Welche biologische Bedeutung kommt nun der Vitamin-C-Beladung der Alveolarphagocyten zu? Die Vitamin-C-Beladung, die diese Zellen in großen Massen bei der Pneumococceninfektion darbieten, deutet darauf hin, daß der Vorgang der Phagocytose ein ausschlaggebendes Moment für die Auslösung dieser Erscheinung ist, wobei vermutlich die der Phagocytose nachfolgende intrazelluläre Verdauung den eigentlichen Anstoß bildet. Hierin gleichen die Alveolarphagocyten vollständig den tätigen Histiocyten im übrigen Organismus. Es ließ sich nämlich früher zeigen, daß Histiocyten, sobald sie irgendwelches totes Material phagocytieren und der intrazellulären Verdauung unterwerfen, eine nicht unerhebliche Vitamin-C-Beladung aufweisen (Phagocytose abgestorbener Eier in atretischen Follikeln, Resorption von Catgutfäden und von quergestreiften Muskelfasern, die durch Essigsäure zur Degeneration gebracht worden waren). Diese Untersuchungen lassen auf eine große Bedeutung des Vitamin C für fermentative Zelleistungen schließen. Vermutlich wird es analog anderen Synthesevorgängen als Betriebsstoff der Zelle bei Erzeugung oder Aktivierung von Fermenten gebraucht. Der Nachweis der Vitamin-C-Beladung innerhalb der Alveolarphagocyten stellt daher einen erneuten Beweis für ihre besondere Zellaktivität dar.

Eine Reihe von Tatsachen für diese gesteigerte Aktivität wurde bereits von früheren Untersuchungen erbracht. Einmal findet sich in ihnen eine Reihe von Einschlüssen, unter denen vor allen Dingen Lipoideinschlüsse eine besondere Erwähnung verdienen. Hier sei darauf hingewiesen, daß auch sonst sehr häufig Vitamin-C-beladene Zellen Lipoide beherbergen, wovon nur Nebennierenrindenzellen, Hodenzwischenzellen und Deziduazellen erwähnt sein sollen. Seemann beschreibt, daß Fetteinschlüsse sich wiederum

gerade nur in den Reizformen vorfinden. Außerdem verfügen die Alveolarphagocyten über ein reichliches Plastosomenmaterial. Besonders erwähnenswert ist der von GRANEL (zit. nach SEEMANN) geführte Nachweis eines Golgiapparates, der perinukleär sitzt und aus kettenförmig angeordneten Körnern besteht. Auf die allgemeine Bedeutung, die dem Golgiapparat für den Vitamin-C-Stoffwechsel der Zellen zukommt, soll hier nicht eingegangen werden. Es sei nur erwähnt, daß in den Alveolarphagocyten das Vitamin C gelegentlich am Golgiapparat lagert, ganz besonders bei der Pneumonie jedoch, bei der sehr viele Alveolarphagocyten plötzlich in Aktion treten, ist sehr häufig klar das Bild der früher beschriebenen Vitamin-C-Emission zu erkennen.

Von großem Interesse ist noch die von FAURÉ-FREMIET in den Alveolardeckzellen nachgewiesene „kadmiophile Substanz", die von ihm als schwefelhaltige Verbindung aufgefaßt wurde und dem Glutathion an die Seite gestellt wird. Vitamin C und Glutathion finden sich als oxydoreduktive Systeme gleichfalls in vielen Zellen gemeinsam vertreten, und es bestehen wichtige Anhaltspunkte dafür, daß beide Substanzen für die Fermentwirkung von großer Bedeutung sind.

Es ist bekannt, daß proteolytische Fermente vom Typus des Kathepsins in inaktiver Form in den Zellen lagern und zu ihrer Aktivierung einer Glutathionschwermetallverbindung bedürfen. Diese Verbindung, bei der die Rolle des Schwermetalls gewöhnlich dem Eisen zufällt, ist oxydationsempfindlich. Es wäre daher denkbar, daß die stark reduzierende Ascorbinsäure diese Komplexverbindung vor der Oxydation schützt und so die Fermentaktivierung einleitet . Da auch das Eisen in den Alveolardeckzellen nachgewiesen wurde (SEEMANN), finden sich in der Tat alle notwendigen Komponenten in den in Frage stehenden Zellen, um den angedeuteten Aktivierungsmechanismus zu ermöglichen.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die Alveolarwandzellen bzw. ihre Reizformen, die Alveolarphagocyten, eine Reihe äußerst wichtiger Substanzen enthalten, die ihnen ihre besondere Stellung als ortsständiger Abwehrapparat der Lunge zuweisen. Zwangsläufig kommen wir damit zu dem Schluß, daß die Alveolarphagocyten funktionell betrachtet in ihrem Arbeitschemismus weitgehend den Histiocyten gleichen. Dabei bleibt das völlig umstrittene Geneseproblem dieser Zellen vollkommen unberührt. Es soll also

nicht gesagt sein, daß dies ein Beweis ihrer histiocytären Genese sei, sondern nur, daß ihrer den Histiocyten ähnlichen biologischen Arbeit auch eine entsprechende Gleichheit in ihrer chemischen Differenzierung entspricht. Wie Brodersen betont, ist das Lungengewebe mit jedem Atemzug der Infektion ausgesetzt, denn sicherlich gelangen mit jedem Atemzug feinste Staubpartikelchen und auch Bakterien in die Alveolen. Daraus erklärt sich, daß der Organismus in jeder Alveole solche tätigen, mobilisierten Abwehrelemente bereitstehen hat.

Die Gesamtsumme der Vitamin-C-beladenen Zellen mag daher in der normalen Lunge bereits ein beträchtliches Ausmaß erreichen. Tatsächlich weist nach titrimetrischen Untersuchungen die Lunge einen nicht unerheblichen Betrag an Ascorbinsäure auf (nach Giroud und Leblond beim Ochsen einen Mittelwert von 18,2 mg%), während z. B. die histochemisch absolut Vitamin-C-freie quergestreifte Skelettmuskulatur nur 1,6 mg% enthält.

Der Befund an Vitamin-C-haltigen Zellen in normalen Lungen gewöhnlich ernährter Tiere ist ziemlich konstant. Auch eine plötzlich überschießende Vitamin-C-Zufuhr durch subcutane Injektion vermag an dem quantitativen Befund des Vitamin-C-gesättigten Tieres nichts zu ändern. Es finden sich nicht mehr Vitamin-C-beladene Zellen als bei normaler Kost. Wie aber schon oben erwähnt wurde, tritt fast unmittelbar nach Pneumococceninfektion eine große Zahl Vitamin-C-beladener Zellen zutage. Das zeigt klar, daß die Vitamin-C-Aufladung dieser Zellen nur erfolgt, wenn sie aus dem Ruhezustand in die Reizformen übergehen, d. h. also ihre eigentliche biologische Aufgabe erfüllen. Die bloße Vitamin-C-Zufuhr allein vermag dagegen zu keiner erhöhten Aufladung zu führen.

Bezeichnenderweise gilt ein ganz ähnliches Verhalten bezüglich der Speicherung saurer kolloidaler Farbstoffe. Nach Seemann speichern im wesentlichen nur die Reizformen, nicht dagegen die ruhenden Alveolarwandzellen, wobei Seemann hervorhebt, daß die Art ihrer Speicherung verschieden ist von der der echten Histiocyten. Sie speichern z. B. Trypanblau nur in feinkörniger Form. Tonutti hat bereits früher darauf hingewiesen, daß Trypanblauspeicherungsvermögen und Vitamin-C-Aufladung in vielen Fällen auffälligerweise parallel gehen. Diese Annahme findet hierin eine weitere Bestätigung, indem — wie oben dargetan wurde — die

ruhenden Alveolarwandzellen frei von Vitamin C sind. Es darf aus diesen Erscheinungen wohl geschlossen werden, daß die Alveolarwandzelle auf einen entsprechenden Reiz hin, der normalerweise wohl auf dem Luftwege, also vom Alveoleninneren eintritt, sich in eine Abwehrzelle umwandelt, indem sie sich mit den notwendigen Betriebsstoffen versieht und dann als sog. Reizform oder Alveolarphagocyt in Erscheinung tritt.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen an einem so gut wie staubzellenfreien Material wurde dargelegt, daß auch in der normalen Lunge die Alveolarphagocyten, d. h. die von vielen Autoren als Reizformen beschriebenen Alveolarwandzellen Vitamin-C-Beladung aufweisen. Diese Vitamin-C-Beladung wird in Beziehung gesetzt zu ihren fermentativen Fähigkeiten im Abwehrkampfe, was besonders klar bei der experimentellen Pneumococceninfektion zutage tritt. Es wird angenommen, daß in der Lunge den Alveolarphagocyten die Rolle eines ortsständigen Abwehrapparates zukommt. Bezüglich ihrer Vitamin-C-Beladung verhalten sie sich wie echte Histiocyten. Hierbei sei daran erinnert, daß der Vitamin-C-Gehalt der Darmwand durch in der Tunica propria lagernde Vitamin-C-beladene Histiocyten bedingt ist, die unabhängig von gerade stattfindenden Resorptionsvorgängen ständig Vitamin C enthalten (Lampa). Es scheint, daß in beiden Fällen an diesen mit der Außenwelt in Verbindung stehenden Körperflächen ein Schutzwall von Abwehrzellen bereitsteht, der in seinem histochemischen Verhalten in beiden Zellgruppen weitgehende Übereinstimmung zeigt. Die besondere Bedeutung, die der Vitamin-C-Beladung der Alveolarphagocyten zukommt, kann wohl aus der großen Neigung der Skorbuttiere zu Spontanpneumonien erkannt werden.

Schrifttum.

Bargmann, Die Lungenalveole. Im Handb. d. Mikr. Anat. d. Menschen. Verlag Springer 1936. Bd. 5. S. 799.

Brodersen, Z. f. Mikr. anat. Forsch. 1933, Bd. 32, S. 73.

Clara, desgl. 1936, Bd. 40, S. 147.

Fauré-Fremiet et Dragoiu, C. R. Soc. Biol. 89, 304, 1923.

Giroud et Leblond, L'acide ascorbique dans les tissue et sa détection. Act. sc. et ind. 435 Paris 1936.

Giroud, Ratsimamanga et Leblond, Bulletin de la Soc. de Chem. Biol. 1937, Bd. 19, S. 1105.

Jeckeln, Beitr. path. Anat. 1933/34, Bd. 92, S. 257.

Lampa, Pflügers Archiv 1937, Bd. 239, S. 370.
Seemann, Histobiologie der Lungenalveole . Verlag G. Fischer, Jena 1931.
Tonutti, Z. f. Klin. Med. 1937, Bd. 132, S. 443.
Ders., Z. f. Mikr. anat. Forsch. 1937, Bd. 42, S. 221.
Tonutti u. Matzner, Kli. Wo. I, S. 63, 1938.
Dies., Histochemische Vitamin-C-Untersuchungen bei der experimentellen Meerschweinchenpneumonie. Virchows Archiv 1938. Im Erscheinen.
Tonutti u. Wallraff, Kli. Wo. 1938, Nr. 24, S. 855.

Lebenslauf.

Als Sohn des Bahnmeisters Karl Matzner und seiner Ehefrau Alice, geb. Adolf, wurde ich am 21. 1. 1914 in Trebnitz geboren. Nach dem Besuch einer Vorschule wurde ich in die Sexta des Breslauer Elisabet-Gymnasiums aufgenommen, wo ich Ostern 1933 die Reifeprüfung ablegte. Nach einhalbjähriger Arbeitsdienstzeit wurde ich am 23. 10. 1933 an der Schlesischen Friedrich-Wilhelm-Universität immatrikuliert und bestand am 1. 4. 1936 das Physikum. Ich studierte anschließend in Freiburg i. Br. und Breslau und legte am 14. 4. 1939 die medizinische Staatsprüfung ab. Ich bin deutscher Reichsangehöriger und arischer Abstammung.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, Herrn Prof. Dr. Blotevogel und Herrn Dr. Tonutti für ihre Anregungen und ihr freundliches Entgegenkommen herzlich zu danken.

K. H. Matzner.